



## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

<b>(51) Classification internationale des brevets <sup>7</sup> :</b> <b>A61K 7/48, 35/80</b>	<b>A1</b>	<b>(11) Numéro de publication internationale:</b> <b>WO 00/13660</b> <b>(43) Date de publication internationale:</b> 16 mars 2000 (16.03.00)
<b>(21) Numéro de la demande internationale:</b> PCT/FR99/02144 <b>(22) Date de dépôt international:</b> 9 septembre 1999 (09.09.99) <b>(30) Données relatives à la priorité:</b> 98/11241 9 septembre 1998 (09.09.98) FR <b>(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US):</b> PARFUMS CHRISTIAN DIOR [FR/FR]; 33, avenue Hoche, F-75008 Paris (FR). <b>(72) Inventeurs; et</b> <b>(75) Inventeurs/Déposants (US seulement):</b> VIRON, Cécile [FR/FR]; 70, boulevard A. Martin, F-45000 Orléans (FR). KRZYCH, Valérie [FR/FR]; 53, rue de Mizalin, F-45460 Les Bordes (FR). RENIMEL, Isabelle [FR/FR]; 165, rue de l'Ane Vert, F-45470 Trainou (FR). ANDRE, Patrice [FR/FR]; 9, rue Charles Vappereau, F-45170 Neuville aux Bois (FR). <b>(74) Mandataires:</b> PORTAL, Gérard etc.; Cabinet Beau de Loménie, 158, rue de l'Université, F-75340 Paris Cedex 07 (FR).		<b>(81) Etats désignés:</b> JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  <b>Publiée</b> <i>Avec rapport de recherche internationale.</i> <i>Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues.</i>
<b>(54) Title:</b> LIPID EXTRACT OF THE SKELETONEMA ALGAE <b>(54) Titre:</b> EXTRAIT LIPIDIQUE DE L'ALGUE SKELETONEMA <b>(57) Abstract</b> <p>The invention concerns a novel lipid extract of Skeletonema algae, particularly of Skeletonema costatum algae. In particular said extract is a complete extract of said algae, obtainable by extracting the Skeletonema algae in an organic solvent, having a polarity index p' less than about 5.4, preferably between 2 and 4.5, and more preferably still p' ranges between 4.2 and 4.4, and cosmetically and pharmaceutically acceptable. Said extract can be used as active principle for making a cosmetic or pharmaceutical composition in particular for producing a slimming, anti-cellulite, and skin anti-ageing treatment and a treatment for sensitive skin.</p> <b>(57) Abrégé</b> <p>L'invention concerne un nouvel extrait lipidique de l'algue Skeletonema, notamment de l'algue Skeletonema costatum. En particulier, cet extrait est un extrait lipidique total de ladite algue. Il peut être obtenu par extraction de l'algue Skeletonema dans un solvant organique, présentant un indice de polarité p' inférieur à environ 5,4, de préférence compris entre 2 et 4,5, et encore de préférence p' étant compris entre 4,2 et 4,4 et acceptable dans l'industrie cosmétique ou pharmaceutique. Cet extrait peut être utilisé comme principe actif pour la fabrication de composition cosmétique ou pharmaceutique notamment pour réaliser un traitement amincissant, anti-cellulitique, anti-vieillessement de la peau, un traitement des peaux sensibles.</p>		

# **UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

## EXTRAIT LIPIDIQUE DE L'ALGUE SKELETONEMA

L'invention concerne un nouvel extrait lipidique de l'algue Skeletonema,  
5 un procédé de préparation ainsi que son utilisation dans les domaines cosmétique  
et pharmaceutique, notamment dermatologique.

Cette algue est une algue du genre Skeletonema, en particulier l'algue  
Skeletonema tropicum, Skeletonema menzelii, Skeletonema potamos,  
Skeletonema subsalsum, Skeletonema pseudocostatum et Skeletonema costatum.

10 Elle concerne plus précisément des utilisations comme agent cosmétique  
d'un extrait lipidique de cette algue.

L'algue Skeletonema, en particulier l'algue Skeletonema tropicum,  
Skeletonema menzelii, Skeletonema potamos, Skeletonema subsalsum,  
Skeletonema pseudocostatum et Skeletonema costatum (nommée SKC dans la  
15 suite du document), est une algue unicellulaire bien connue, du phylum des  
Chlorophytes, de l'embranchement des Chrysophycophytes, de la classe des  
Diatomophycées et de l'ordre des Centrales. Les Diatomophycées sont très  
répandues dans les eaux douces, marines, ou saumâtres. La vie des espèces de  
cette classe peut être planctonique ou benthique. Le protoplasme est enfermé dans  
20 un frustule siliceux. La plante davantage préférée est la plante Skeletonema  
costatum (SKC) est une espèce cosmopolite le plus souvent marine, que l'on  
trouve fréquemment associée aux efflorescences phytoplanctoniques des eaux  
côtières.

Les essais réalisés par les inventeurs ont permis de mettre en évidence une  
25 action enzymatique très surprenante des extraits lipidiques de cette algue. Les  
inventeurs ont mis en évidence une action d'inhibition sur la 3',5'-AMPc  
phosphodiesterase, ce qui a permis d'envisager son utilisation dans des produits  
cosmétiques et pharmaceutiques, notamment dermatologiques.

La 3',5'-AMPc phosphodiesterase, désignée ci-après " phosphodiesterase "  
30 ou " PDE ", est l'enzyme qui transforme la 3',5'-adénosine monophosphate  
cyclique (AMPc), second messenger qui intervient dans le contrôle du métabolisme  
cellulaire, en adénosine monophosphate (AMP), forme inactive dudit second  
messenger. L'inhibition de la PDE par un agent inhibiteur permet en conséquence  
de maintenir un taux intracellulaire élevé d'AMPc, ce qui a pour effet notamment  
35 d'activer les protéines kinases A, et, par ce processus, permet en particulier de  
favoriser la dégradation des lipides.

De plus, il est également connu que l'AMPc intervient pour contrer certains processus inflammatoires (Front Matrix Biol., vol.6, pp.193-205, Karger, Busel 1978, Skin inflammatory reactions and cyclic AMP, Georges Cehovic and Nguyen-Ba Giao). Il a également été décrit que la PDE augmente avec l'âge (S.K. Puri et L. Volicer, Mechanisms of Aging en Dev. (1981), 15, 239). De ce fait, l'inhibition de la PDE contribuera à retarder l'apparition des effets du vieillissement, en particulier au niveau cutané.

Ainsi, il a été mis en évidence par les inventeurs, que grâce à leur action inhibitrice sur la PDE, les extraits lipidiques de Skeletonema, en particulier des espèces précitées, et de préférence de SKC présentent un grand intérêt en cosmétique et en thérapeutique.

En effet, par la découverte de l'activité des extraits lipidiques de Skeletonema, en particulier des espèces précitées, et de préférence de SKC, inhibant l'action de la PDE, l'invention fournit différentes solutions dans le domaine de la cosmétique et de la thérapeutique, notamment de la dermatologie.

L'inhibition de la PDE conduit à une action amincissante, anti-inflammatoire, anti-cellulite et anti-vieillessement des compositions de l'invention.

Ainsi, selon un premier aspect, l'invention concerne un nouvel extrait lipidique de l'algue Skeletonema, notamment d'une algue choisie dans le groupe consistant de *S. tropicum*, *S. menzelii*, *S. potamos*, *S. subsalsum*, *S. pseudocostatum* et *S. costatum*, en particulier un extrait lipidique total de ladite algue, obtenu par extraction dans un solvant organique.

Selon un mode de réalisation avantageux de l'invention, cet extrait lipidique est caractérisé en ce qu'il s'agit d'un extrait lipidique obtenu par extraction de l'algue Skeletonema dans un solvant organique, présentant un indice de polarité  $p'$  inférieur à environ 5,4, de préférence compris entre 2 et 4,5, et encore de préférence  $p'$  étant compris entre 4,2 et 4,4, et acceptable dans l'industrie cosmétique ou pharmaceutique. On se reportera, pour les indices de polarité des solvants, à l'article de L.R. SNYDER ; Classification of the solvent properties of common liquids ; Journal of Chromatography, 92 (1974), 223-230.

Selon encore un mode de réalisation avantageux de l'invention, l'extrait lipidique précité est obtenu par extraction de l'algue avec un solvant organique choisi parmi le groupe consistant de l'isopropanol, l'acétate d'éthyle, le dichlorométhane et le chloroforme.

Selon encore un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, l'extrait précité est obtenu par extraction de l'algue avec de l'isopropanol.

A titre d'exemple, on peut rappeler les p' pour chaque solvant précité :

- isopropanol : 4,3
- acétate d'éthyle : 4,3
- chloroforme : 4,4
- 5 - dichlorométhane : 3,7.

Selon encore une variante de réalisation avantageuse, l'extraction est réalisée au reflux.

10 Selon encore une variante de réalisation avantageuse, l'algue est congelée avant d'être extraite avec le solvant, de préférence la congélation étant réalisée à une température située entre - 40°C et - 20°C environ et pendant une durée comprise de préférence entre 1 et 7 jours environ.

15 Selon encore une variante de réalisation avantageuse, l'algue congelée est plongée directement dans le solvant porté à température de reflux. Le choc thermique permet en effet de faciliter la décantation de la silice (issue du squelette des cellules des algues).

20 Selon encore une autre variante de réalisation avantageuse, avant toute autre opération d'extraction, on réalise une macération de l'algue dans le solvant organique à température ambiante et de préférence pendant une durée comprise entre 5 minutes et 80 minutes environ, et de préférence encore, pendant une durée comprise entre 20 minutes et 40 minutes environ.

Selon encore une autre variante de réalisation avantageuse, la quantité de solvant organique utilisée est comprise entre 0,1 litre et 20 litres environ de solvant, de préférence comprise entre 2 litres et 10 litres environ de solvant, pour 100 g d'algue, exprimés en poids sec d'algue.

25 Selon encore une autre variante de réalisation avantageuse, l'extraction peut-être réalisée sous atmosphère inerte, de préférence sous atmosphère saturée en azote. Ceci permet d'éviter en particulier une dégradation prononcée des molécules actives.

30 Le procédé peut comprendre également une simple macération (seule) à température ambiante et/ou un reflux ou un reflux seul, sous pression atmosphérique, de préférence sous atmosphère inerte, de préférence sous atmosphère saturée en azote.

35 La quantité de solvant organique utilisée est avantageusement comprise entre 0,1 litre et 20 litres environ de solvant, de préférence comprise entre 2 litres et 10 litres environ de solvant, pour 100 g d'algue, exprimés en poids sec d'algue.

L'extrait sera obtenu de préférence par une extraction en deux temps décrite ci-après. Une première étape d'extraction solide/liquide suivie d'une deuxième étape de fractionnement, de décoloration et de désodorisation.

L'extraction peut-être réalisée sous atmosphère inerte (saturée en azote), ce  
5 qui permet d'éviter en particulier une dégradation prononcée des molécules actives.

L'extrait est avantageusement obtenu par macération de l'algue dans un solvant, de préférence acceptable dans l'industrie cosmétique ou pharmaceutique et présente un indice de polarité  $p'$  inférieur à environ 5,4, de préférence compris  
10 entre 2 et 4,5 et encore de préférence  $p'$  étant compris entre 4,2 et 4,4.

L'extraction aura lieu de préférence à reflux.

Le temps de macération est de préférence compris entre environ 5 minutes et environ 80 minutes de préférence entre environ 20 minutes et environ 40 minutes.

L'ensemble (biomasse + solvant) est porté à reflux pendant une durée de environ 15 minutes à environ 2 heures, de préférence entre environ 20 minutes et environ 40 minutes, sous agitation (la température du solvant étant maintenue).

Après le refroidissement de la masse réactionnelle, l'extrait est filtré afin de réaliser la séparation biomasse épuisée / extrait lipidique dans le solvant.

L'extrait lipidique est ensuite concentré (Facteur de concentration égal à environ 71,5).

Pour commencer la seconde étape, l'extrait lipidique est repris dans le solvant à froid à raison de environ 5 kg à environ 15 kg de solvant pour 1 kg d'huile de préférence à raison de environ 9 kg à environ 11 kg de solvant pour 1 kg  
25 d'huile. L'agitation est prolongée pendant une durée comprise entre environ 10 minutes et environ 60 minutes de préférence entre environ 15 minutes et environ 25 minutes. Le jus est ensuite filtré, ce qui permet d'éliminer la boue collante résiduelle.

Le traitement de décoloration / désodorisation est ensuite effectué par exemple avec de la zéolithe et du charbon actif. Le taux de charbon peut être compris entre environ 1 % et environ 5 %, de préférence entre environ 1,5 % et environ 2 % et celui de zéolithe peut être compris entre environ 0,3% et environ 4 %, de préférence entre environ 0,8 % et environ 1,2 %. Le rapport charbon sur zéolithe peut être compris entre environ 1 et environ 4 de préférence entre environ  
35 1,5 et environ 2.

La zéolithe et le charbon sont ensuite éliminés par exemple par filtration.

Des antioxydants peuvent être ajoutés pour la conservation des molécules actives tels que par exemple du DL alpha-tocophérol ou l'un de ses esters tel que le tocophérol phosphate, et/ou un ascorbate, en particulier un palmitate d'ascorbyle de préférence à une concentration comprise entre 0,001% et 5 % en poids par rapport au poids total dudit extrait. Ces antioxydants pourront être incorporés par une solution mère dans le solvant d'extraction.

Le filtrat et les antioxydants, qui ont pu être ajoutés, sont ensuite concentrés par exemple en batch jusqu'à l'obtention d'une huile de couleur brune.

Le conditionnement de cet extrait lipidique est réalisé de préférence sous gaz inerte tel que de l'azote afin de protéger les molécules actives.

Selon un deuxième aspect, la présente invention concerne aussi un procédé de fabrication d'un extrait lipidique de l'algue *Skeletonema*, en particulier d'un extrait lipidique total de ladite algue, caractérisé en ce qu'on réalise une extraction de ladite algue avec un solvant organique pendant une période de temps suffisante pour réaliser ledit extrait organique lipidique. Les conditions d'extraction sont telles que définies dans l'exposé du premier aspect de l'invention. En particulier, l'extrait est avantageusement obtenu par extraction de l'algue *Skeletonema* dans un solvant organique présentant un indice de polarité  $p'$  inférieur à environ 5,4, de préférence compris entre 2 et 4,5, et encore de préférence  $p'$  étant compris entre 4,2 et 4,4, et acceptable dans l'industrie cosmétique ou pharmaceutique.

Diverses variantes de réalisation du procédé de fabrication apparaissent clairement à l'homme de l'art à partir de la description précédente relativement à la définition de l'extrait organique lipidique dans le cadre du premier aspect.

Selon un troisième aspect, l'invention concerne une composition cosmétique, caractérisée en ce qu'elle comprend à titre de principe actif, un extrait lipidique précité de l'algue *Skeletonema* précitée, en particulier un extrait lipidique total de ladite algue, en présence d'un véhicule cosmétiquement acceptable.

Par ailleurs, comme précédemment indiqué, l'algue *Skeletonema* est en particulier choisie parmi le groupe consistant de l'algue *Skeletonema tropicum*, *Skeletonema menzelii*, *Skeletonema potamos*, *Skeletonema subsalsum*, *Skeletonema pseudocostatum* et *Skeletonema costatum*.

Selon un mode de réalisation avantageux, cette composition est caractérisée en ce qu'il s'agit d'une composition cosmétique destinée au soin de la peau, contenant une quantité cosmétiquement efficace de l'extrait lipidique de l'algue *Skeletonema* précitée pour lutter contre les effets du vieillissement cutané ou contre les phénomènes d'inflammation.

Selon encore un mode de réalisation avantageux, cette composition est caractérisée en ce qu'il s'agit d'une composition cosmétique destinée au soin de la peau, contenant une quantité cosmétiquement efficace de l'extrait lipidique de l'algue *Skeletonema* précitée pour obtenir une action amincissante.

5        Selon encore un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, cette composition est caractérisée en ce qu'il s'agit d'une composition cosmétique destinée au soin de la peau, contenant une quantité cosmétiquement efficace de l'extrait lipidique de l'algue *Skeletonema* précitée pour obtenir une action anti-cellulite.

10       Les compositions selon l'invention peuvent être formulées selon toute forme acceptable pour leur emploi en cosmétologie. Il peut, en particulier, s'agir d'une composition sous forme appropriée pour une application topique, en particulier sous forme d'une crème ou d'un gel, en particulier d'une crème ou d'un gel pour le visage, les mains, le buste ou le corps.

15       Selon encore un autre mode de réalisation avantageux, cette composition comprend de 0,001 % à 10 % environ, et en particulier de 0,02 % à 1 % environ en poids sec dudit extrait lipidique par rapport au poids total de la composition finale.

20       D'autres caractéristiques particulières de cette composition cosmétique, notamment de l'extrait, résultent de la description précédente et suivante.

      Selon encore un autre mode de réalisation avantageux, cette composition comprend aussi au moins un agent antioxydant, en particulier le DL  $\alpha$ -tocophérol, ou l'un de ses sels ou esters tel que le tocophérolphosphate, et/ou un ascorbate, en particulier le palmitate d'ascorbyle, de préférence à une concentration comprise  
25       entre 0,001 % et 5 % environ en poids, par rapport au poids total dudit extrait.

      Selon un quatrième aspect, la présente invention concerne encore une composition pharmaceutique, notamment dermatologique, de préférence formulée pour une application topique, caractérisée en ce qu'elle comprend à titre d'ingrédient actif, un extrait lipidique précité de l'algue *Skeletonema* en particulier  
30       un extrait lipidique total de ladite algue, dans un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

      Selon un mode de réalisation avantageux, cette composition comprend de 0,001 % à 10 % environ, et en particulier de 0,02 % à 1 % environ en poids sec dudit extrait lipidique par rapport au poids total de la composition finale.

35       Selon encore un autre mode de réalisation avantageux, cette composition comprend aussi au moins un agent antioxydant, en particulier le DL  $\alpha$ -tocophérol,



ou l'un de ses sels ou esters tel que le tocophérolphosphate, et/ou un ascorbate, en particulier le palmitate d'ascorbyle, de préférence à une concentration comprise entre 0,001 % et 5 % environ en poids, par rapport au poids total dudit extrait.

5 D'autres caractéristiques particulières de cette composition pharmaceutique, notamment de l'extrait, résultent de la description précédente et suivante.

Selon un cinquième aspect, l'invention concerne l'utilisation d'un extrait lipidique de l'algue *Skeletonema* en particulier d'un extrait lipidique total de ladite algue, comme agent cosmétique, en présence d'un véhicule cosmétiquement acceptable.

Cet agent cosmétique sera notamment utilisé dans toutes les compositions où l'on recherche, en particulier, à inhiber l'action de la 3',5'-AMPc phosphodiesterase.

Ainsi, cette utilisation est avantageusement aussi caractérisée en ce que l'extrait précité est un agent inhibiteur de la 3',5'-AMPc phosphodiesterase.

Selon un mode de réalisation avantageux de cette utilisation, celle-ci est caractérisée en ce que l'extrait est destiné au soin de la peau, en particulier pour obtenir une action amincissante, pour lutter contre les phénomènes d'inflammations cutanées, pour retarder ou atténuer les effets du vieillissement de la peau, pour réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées, notamment la cellulite.

Cet agent cosmétique pourra donc être utilisé pour lutter contre les effets du vieillissement sur la peau, notamment en préservant ou améliorant les qualités biomécaniques de la peau, en particulier en améliorant la fermeté cutanée, l'élasticité de la peau, en retardant l'apparition des rides ou en diminuant leur profondeur.

Cet agent cosmétique pourra encore être utilisé pour le soin des peaux sensibles, notamment en atténuant ou en supprimant les phénomènes d'irritation, d'inflammations ou d'allergies qui se traduisent souvent au niveau cutané par des rougeurs, des sensations de brûlure ou de picotements.

Cet agent cosmétique pourra encore être utilisé pour obtenir un amincissement de différentes parties du corps, en particulier des hanches.

Cet agent cosmétique est en particulier utilisé pour lutter contre la cellulite.

Ainsi, les compositions cosmétiques de l'invention seront notamment utilisées pour toutes les applications cosmétiques où l'on cherche à inhiber la PDE.

Comme on l'a vu précédemment, l'efficacité des compositions cosmétiques précédemment décrites a pu être corrélée avec une activité enzymatique. La mise en évidence de cette activité a permis d'envisager également l'utilisation des extraits lipidiques définis précédemment pour la préparation de compositions pharmaceutiques, notamment dermatologiques dans lesquelles une telle activité est souhaitée. Les essais réalisés par les inventeurs de la présente invention ont confirmé l'efficacité de ces compositions pharmaceutiques.

Ainsi, l'inhibition de la PDE se traduit par le maintien d'un taux élevé d'AMPc intracellulaire. Ceci conduit à divers effets intéressants pour la peau, en particulier des effets amincissants, anti-vieillissements, anti-inflammatoires et anti-cellulite.

Selon un sixième aspect, l'invention concerne également l'utilisation d'un extrait lipidique de l'algue *Skeletonema* en particulier d'un extrait lipidique total de ladite algue, comme principe actif pour la fabrication d'une composition pharmaceutique, notamment dermatologique, destinée à obtenir une action amincissante, à lutter contre les phénomènes d'inflammation de la peau et à réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées, notamment la cellulite. Avantageusement, cette composition comprendra habituellement ledit extrait incorporé dans un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

Pour ces différentes applications, la composition pharmaceutique présente avantageusement une activité inhibitrice de la PDE.

Selon une variante, l'invention concerne l'utilisation d'un extrait lipidique de SKC pour la préparation d'une composition pharmaceutique, notamment dermatologique, destinée au traitement et à la prévention des manifestations allergiques, en particulier l'allergie cutanée.

Ce type d'application est directement lié à l'inhibition des médiateurs lipidiques de l'inflammation.

Dans toutes les applications du domaine pharmaceutique, notamment dermatologique, les compositions utilisées sont de préférence des compositions à application topique destinées à être appliquées sur la peau. Par ailleurs, les extraits lipidiques de l'algue utilisés pour leur préparation sont obtenus de la même façon que les extraits lipidiques utilisés dans le domaine cosmétique et sont introduits dans un véhicule pharmaceutiquement, notamment dermatologiquement, acceptable à des concentrations comprises entre 0,001 % et 10 % environ, et en particulier entre 0,02 % et 1 % environ en poids sec dudit extrait lipidique par rapport au poids total de la composition finale.

Selon encore un septième aspect, la présente invention concerne un procédé de traitement cosmétique ou pharmaceutique, notamment dermatologique, caractérisé en ce qu'il comprend l'application topique, en particulier sur la peau, d'une personne en ayant besoin, d'une quantité cosmétiquement ou pharmaceutiquement, notamment dermatologiquement efficace, d'un extrait lipidique de l'algue *Skeletonema*, notamment de l'algue *Skeletonema costatum*, en particulier d'un extrait lipidique total de ladite algue, tel que défini précédemment éventuellement dans un excipient cosmétiquement ou pharmaceutiquement, notamment dermatologiquement, acceptable.

D'autres caractéristiques du procédé apparaissent clairement de la description précédente et suivante prise dans son ensemble.

En particulier, selon une variante de réalisation, il s'agit d'un procédé de traitement cosmétique amincissant comprenant l'application sur les zones de la peau concernées d'une personne en ayant besoin, d'une quantité efficace de l'extrait lipidique précité de l'algue *Skeletonema* pour obtenir un effet amincissant.

Selon une autre variante de réalisation, il s'agit d'un traitement cosmétique anti-cellulitique comprenant l'application sur les zones de la peau concernées d'une personne en ayant besoin, d'une quantité efficace de l'extrait lipidique précité de l'algue *Skeletonema* pour obtenir un effet de réduction de la cellulite ou pour en retarder l'apparition ou la progression.

Selon encore une autre variante de réalisation, il s'agit d'un traitement cosmétique anti-vieillesse de la peau comprenant l'application sur les zones de la peau concernées d'une personne en ayant besoin, d'une quantité efficace de l'extrait lipidique précité de l'algue *Skeletonema* pour obtenir un effet anti-vieillesse sur lesdites zones de la peau, notamment pour améliorer la fermeté cutanée, améliorer l'élasticité de la peau, retarder l'apparition des rides ou diminuer leur profondeur.

Selon encore une autre variante de réalisation, il s'agit d'un traitement cosmétique pour les peaux sensibles, comprenant l'application sur les zones de la peau concernées d'une personne en ayant besoin, d'une quantité efficace de l'extrait lipidique précité de l'algue *Skeletonema* pour atténuer ou supprimer les phénomènes d'irritations, d'inflammations ou d'allergies, qui se traduisent au niveau cutané par des rougeurs, des sensations de brûlures ou de picotements.

Ce traitement cosmétique peut également consister en un soin destiné à réduire les surcharges grasses cutanées et en particulier destiné à lutter contre la cellulite.

Dans le cas d'un traitement pharmaceutique ou thérapeutique, il s'agit de traiter des pathologies qui résultent clairement de la description précédente ou suivante, comme par exemple le traitement et la prévention des manifestations allergiques, en particulier l'allergie cutanée.

5 Selon encore un autre aspect, l'invention concerne un procédé de traitement cosmétique ou pharmaceutique destiné au maintien ou à l'obtention d'un taux élevé d'AMPc intracellulaire au niveau des cellules cutanées, caractérisé en ce qu'il comprend l'application topique sur la peau d'une quantité cosmétiquement ou pharmaceutiquement efficace d'un extrait lipidique précité de l'algue *Skeletonema*,  
10 notamment de l'algue *Skeletonema costatum*, en particulier d'un extrait lipidique total de ladite algue, pour maintenir ou obtenir ledit taux élevé d'AMPc intracellulaire.

Dans chacun des aspects précédents, l'algue *Skeletonema* est de préférence choisie parmi le groupe consistant de l'algue *Skeletonema tropicum*, *Skeletonema menzelii*,  
15 *Skeletonema potamos*, *Skeletonema subsalsum*, *Skeletonema pseudocostatum* et *Skeletonema costatum*. Encore de préférence, l'algue *Skeletonema* est l'algue *Skeletonema costatum*.

Par ailleurs, dans le cadre d'une composition cosmétique ou pharmaceutique ou dans le cas d'une utilisation cosmétique ou pharmaceutique,  
20 l'extrait lipidique de l'algue *Skeletonema* est un extrait lipidique obtenu avec un solvant quelconque, c'est-à-dire qu'il n'est pas limité aux extraits et au procédé d'extraction décrits et revendiqués. Il est davantage préféré d'utiliser un extrait lipidique de l'algue *Skeletonema* avec un solvant organique de faible polarité, ayant de préférence un indice  $p'$  inférieur à environ 5,4, de préférence compris  
25 entre 2 et 4,5, et encore de préférence compris entre 4,2 et 4,4. Les solvants particuliers précédemment cités répondant à ces critères sont évidemment utilisables dans chacun des aspects de l'invention.

En outre, le mode de réalisation préféré de l'invention est relatif à l'emploi d'un extrait lipidique de l'algue *Skeletonema costatum*, et de préférence un extrait  
30 lipidique de l'algue *Skeletonema costatum* comme précédemment défini.

Avantageusement, l'extrait lipidique de l'algue *Skeletonema*, en particulier d'un extrait lipidique total de ladite algue, est obtenu à partir de l'algue congelée extraite dans l'isopropanol, de préférence au reflux.

Les exemples qui suivent sont donnés à titre purement illustratif de  
35 l'invention.

D'autres avantages de l'invention apparaîtront au vu de la description et des exemples qui suivent.

Sauf indication contraire, les proportions données dans les exemples de compositions sont exprimées en pourcentage en poids.

5

### Exemple 1

#### Préparation d'un extrait lipidique selon l'invention

De préférence, l'ensemble de l'extraction sera réalisé sous atmosphère inerte (saturation en azote) afin d'éviter une dégradation prononcée des molécules actives.

10

Dans cette préparation, nous utilisons 250 kg de biomasse (*Skeletonema costatum*).

Les algues, qui ont été congelées à -20°C, sont plongées dans l'IPA (isopropanol) à reflux à 80-83 °C, et ce sous agitation. Le choc thermique permet de faciliter la décantation de la silice (issue du squelette des cellules des algues).

15

La quantité de solvant utilisée est de 10 litres d'IPA pour 1 litre d'eau contenue dans la biomasse. Dans cette préparation, pour un pourcentage de matière sèche de 30 %, les 250 kg de biomasse représentent une quantité de matière sèche de 75 kg et 175 kg d'eau. La quantité d'IPA engagé est ici de 1925 kg.

20

L'ensemble (biomasse + IPA) est porté à reflux pendant une demi-heure sous agitation (et donc à environ 80°C) avant d'être refroidi vers 50°C.

Après le refroidissement de la masse réactionnelle vers 50°C, l'extrait est transféré dans un filtre de type GUEDU afin de réaliser la séparation biomasse épuisée / extrait lipidique sous IPA.

25

L'extrait lipidique est concentré dans un réacteur batch (Facteur de concentration = 71,5).

Le rendement par rapport au poids sec de cette première étape est de 28 % en huile brute.

30

Pour commencer la seconde étape, l'extrait lipidique est repris dans de l'IPA à froid à raison de 10 kg de solvant pour 1 kg d'huile. L'agitation est prolongée pendant 20 minutes. Le jus est ensuite filtré (ceci permet d'éliminer la boue collante résiduelle).

35

Le traitement de décoloration et de désodorisation est réalisé en deux batches dans un réacteur schott de 80 litres et dure 30 minutes à température ambiante. La quantité de zéolithe (ABSENT 2000, fournisseur UOP) ajoutée est

de 0,94 kg et celle de charbon actif (CXV, fournisseur CECA) est de 1,6 kg. Le rapport charbon sur zéolithe est de 1,7.

La zéolithe et le charbon sont ensuite éliminés par filtration sur papier.

Les rendements par rapport au poids sec de cette seconde étape est de  
5 37 %.

Ainsi, le rendement global en huile pour l'ensemble du procédé est de 10 % par rapport au poids sec de biomasse.

Des antioxydants (du DL  $\alpha$ -tocophérol à 0,05% final en poids et du palmitate d'ascorbyle à 0,05 % final en poids) sont incorporés par une solution  
10 mère dans de l'IPA.

Le filtrat et les antioxydants sont ensuite concentrés en batch jusqu'à l'obtention d'une huile de couleur brune.

Le conditionnement de cet extrait lipidique est réalisé sous gaz inerte tel que de l'azote.

15

## Exemple 2

### Mise en évidence de l'activité inhibitrice des extraits lipidiques sur la PDE

#### 2.1- Principe du test d'activité inhibitrice :

20 Le principe du test est basé sur l'hydrolyse de la 3',5'-adénosine monophosphate cyclique (AMPC) en adénosine monophosphate (AMP). La formation d'AMP est mesurée par analyse HPLC (Chromatographie Liquide Haute Performances).

Les solutions des réactifs sont réalisées dans du tampon Tris-HCL : 0,05M  
25 à pH=7,5.

Les extraits lipidiques à tester sont à 0,1% dans du DMSO.

On réalise la même expérience avec un produit actif de référence, la théophilline (H. Kather, A. Scheurer, Effects of different phosphodiesterase inhibitors on the antilipolytic action of insulin in human adipocytes : Horm.  
30 Metabol. Res. 19 (1987) 379-381). De même, B.B. Fredholm, E. Lindger, Acta pharmacol. et toxicol., 54 (1984), p. 64-71, "The effect of Alkylxanthines and other Phosphodiesterase Inhibitors on Adenosine receptor mediated decrease in lipolysis and cyclic AMP accumulation in rat fat cells". Ces tests sont des tests de référence pour l'homme de l'art.

35 La théophilline testée (SIGMA / Réf. T1633) est à 0,2 % dans du DMSO.

La composition des milieux réactionnels est décrite ci-après. On mélange la solution d'AMPc avec le solvant qui contient ou non le produit à tester et le tampon. A ce milieu on ajoute extemporanément la PDE qui est dans du tampon Tris-HCL.

- 5 On mesure la quantité d'AMP formée après 5 minutes de réaction, en calculant la surface d'intégration du pic de l'AMP sur le chromatogramme fourni par l'appareil HPLC (KONTRON S.A.).

La composition des milieux réactionnels est indiquée ci-dessous :

10

	Echantillon Témoin	Echantillon avec produit testé
Substrat (AMPc (WALDHOF / Allemagne) : 0,25% dans le tampon)	80µl	80µl
Solvant DMSO (Dimethyl sulfoxide)	80µl	0
Produit testé (à 0,1% dans du DMSO)	0	80µl
Tampon Tris-HCL : 0,05M à pH=7,5	480µl	480µl

Ajouter extemporanément :

Enzyme (PDE (SIGMA / Réf. : P800) : 0,5 U/ml dans le tampon)	160µl	160µl
---	-------	-------

2.2- Le mode de calcul des résultats est le suivant :

- 15 On mesure la quantité d'AMP due à l'action de la PDE, après 5 minutes de réaction.

On obtient une activité " A " du produit testé qui est exprimé sous la forme d'un pourcentage d'inhibition de la PDE définie ci-dessous :

20

$$A = \left( \frac{S_t - S_p}{S_t} \right) \times 100$$

Avec :

$S_t$  qui est la surface d'intégration de l'AMP pour l'échantillon témoin

$S_p$  qui est la surface d'intégration de l'AMP pour l'échantillon avec produit testé.

25

### 2.3- Les résultats

**Tableau I**  
**Inhibition de la PDE**

	Surface d'intégration de l'AMP	A (%)	Ecart type
DMSO	40,80	0	0,6
théophilline	26,52	35	2,5
Extrait lipidique sec de Skeletonema costatum	23,26	43	4

### 2.4- Commentaires des résultats

Les résultats obtenus démontrent l'existence d'une importante activité  
5 inhibitrice de l'extrait lipidique selon l'invention sur la PDE.

Cette activité inhibitrice de l'extrait selon l'invention est au moins aussi  
importante que celle, bien connue, de la théophilline. Elle est même peut-être  
supérieure à celle de la théophilline.

Grâce à l'inhibition de la PDE, d'une manière très significative, l'invention  
10 permet de maintenir un taux intracellulaire élevé d'AMPc, ce qui a pour effet  
notamment d'activer les protéines kinases A, et, par ce processus, permet en  
particulier de favoriser la dégradation des lipides. L'invention permet donc d'avoir  
une action amincissante.

D'autre part, étant donné que l'AMPc intervient pour contrer certains  
15 processus inflammatoires, l'extrait de la plante Skeletonema selon l'invention a  
une activité anti-inflammatoire.

La combinaison des actions de dégradation des lipides et de limitation des  
processus inflammatoires permet de lutter contre la cellulite.

Grâce également au fait que la PDE augmente avec l'âge, l'activité  
20 inhibitrice de la PDE obtenue avec l'extrait selon l'invention permet de retarder  
l'apparition des signes du vieillissement. Les présents essais démontrent bien que  
l'extrait de Skeletonema selon la présente invention peut être utilisé en cosmétique  
ou pharmacie pour obtenir l'ensemble des effets précédemment décrits.



Exemple 3Crème peaux sensibles.

Huile minérale fluide	7,50 g
Octanoate d'octyl	5,00 g
Octanoate de céstéaryl	5,00 g
Méthyl glucose sesquistéarate	3,00 g
Cire d'abeille	3,00 g
Glycérine	3,00 g
Gomme Xanthane	0,50 g
Parfum	0,30 g
Phénoxyéthanol	0,20 g
Extrait lipidique sec de Skeletonema costatum	0,05 g
Colorant	qs. g
Eau	qsp 100,00 g

5 Exemple 4Lotion adoucissante

Eau florale Hannarelis	5,00 g
Méthyl glucose POE 20	2,00 g
Glycérine	2,00 g
Polysorbate 20	1,50 g
Parahydroxybenzoate de méthyl	0,15 g
EDTA tétrasodique	0,10 g
Parfum	0,10 g
Extrait lipidique sec de Skeletonema costatum	0,05 g
Colorant	qs. g
Acide citrique / Citrate de sodium	qsp (pH = 6,50) g
Eau	qsp 100 g

Exemple 5Gel hydroalcoolique amincissant.

Alcool dénaturé (éthanol)	30,00 g
Glycérine	2,00 g
Carbomer	0,50 g
Triéthanolamine	0,50 g
Extrait lipidique sec de <i>Skeletonema costatum</i>	0,10 g
Eau	qsp 100,00 g

## REVENDICATIONS

1. Extrait lipidique de l'algue *Skeletonema*, notamment d'une algue choisie dans le groupe consistant de *S. tropicum*, *S. menzelii*, *S. potamos*, *S. subsalsum*,  
5 *S. pseudocostatum* et *S. costatum*, en particulier un extrait lipidique total de ladite algue, obtenu par extraction dans un solvant organique.

2. Extrait selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un extrait lipidique obtenu par extraction de l'algue *Skeletonema* dans un solvant organique, présentant un indice de polarité  $p'$  inférieur à environ 5,4, de préférence compris  
10 entre 2 et 4,5, et encore de préférence  $p'$  étant compris entre 4,2 et 4,4, et acceptable dans l'industrie cosmétique ou pharmaceutique.

3. Extrait selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que l'extrait précité est obtenu par extraction de l'algue avec un solvant organique choisi parmi le groupe consistant de l'isopropanol, l'acétate d'éthyle, le dichlorométhane et le  
15 chloroforme.

4. Extrait selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que l'extrait précité est obtenu par extraction de l'algue avec de l'isopropanol.

5. Extrait selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'extraction est réalisée au reflux.

20 6. Extrait selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'algue est congelée avant d'être extraite avec le solvant, de préférence la congélation étant réalisée à une température située entre  $-40^{\circ}\text{C}$  et  $-20^{\circ}\text{C}$  environ et pendant une durée comprise de préférence entre 1 et 7 jours environ.

25 7. Extrait selon la revendication 6, caractérisé en ce que l'algue congelée est plongée directement dans le solvant porté à température de reflux.

8. Extrait selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que, avant toute opération d'extraction, on réalise une macération de l'algue dans le solvant à température ambiante, de préférence pendant une durée comprise entre 5 minutes et 80 minutes environ, et de préférence encore, pendant une durée comprise entre  
30 20 minutes et 40 minutes environ.

9. Extrait selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que la quantité de solvant utilisée est comprise entre 0,1 litre et 20 litres environ de solvant, de préférence comprise entre 2 litres et 10 litres environ de solvant, pour 100 g d'algue, exprimé en poids sec d'algue.

10. Extrait selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'extraction est réalisée sous atmosphère inerte, de préférence sous atmosphère saturée en azote.

11. Procédé de fabrication d'un extrait lipidique de l'algue *Skeletonema*, en particulier d'un extrait lipidique total de ladite algue, caractérisé en ce qu'on réalise une extraction de ladite algue avec un solvant organique pendant une période de temps suffisante pour réaliser ledit extrait lipidique.

12. Procédé selon la revendication 11, caractérisé en ce que l'algue, le solvant et les conditions d'extraction sont tels que définis à l'une quelconque des revendications 1 à 11.

13. Composition cosmétique, caractérisée en ce qu'elle comprend à titre de principe actif, un extrait lipidique de l'algue *Skeletonema*, en particulier un extrait lipidique total de ladite algue, en présence d'un véhicule cosmétiquement acceptable.

14. Composition selon la revendication 13, caractérisée en ce qu'il s'agit d'une composition cosmétique destinée au soin de la peau, contenant une quantité cosmétiquement efficace de l'extrait lipidique de l'algue *Skeletonema* précité pour lutter contre les effets du vieillissement cutané ou contre les phénomènes d'inflammations.

15. Composition selon la revendication 13, caractérisée en ce qu'il s'agit d'une composition cosmétique destinée au soin de la peau, contenant une quantité cosmétiquement efficace de l'extrait lipidique de l'algue *Skeletonema* précité pour obtenir une action amincissante.

16. Composition selon la revendication 13, caractérisée en ce qu'il s'agit d'une composition cosmétique destinée au soin de la peau, contenant une quantité cosmétiquement efficace de l'extrait lipidique de l'algue *Skeletonema* précité pour obtenir une action anti-cellulite.

17. Composition selon l'une des revendications 13 à 16, caractérisée en ce qu'il s'agit d'une composition cosmétique sous forme appropriée pour une application topique, en particulier sous forme d'une crème ou d'un gel, en particulier sous forme d'une crème ou d'un gel pour le visage, les mains, le buste ou le corps.

18. Composition pharmaceutique, notamment dermatologique, de préférence formulée pour une application topique, caractérisée en ce qu'elle comprend, à titre d'ingrédient actif, un extrait lipidique de l'algue *Skeletonema*, en

particulier un extrait lipidique total de ladite algue, dans un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

19 Composition selon l'une des revendications 13 à 18, caractérisée en ce qu'elle comprend de 0,001 % à 10 % environ, et en particulier de 0,02 % à 1 % environ en poids sec dudit extrait lipidique par rapport au poids total de la composition finale.

20. Composition selon l'une des revendications 13 à 19, caractérisée en ce que l'extrait est tel que défini à l'une quelconque des revendications 1 à 11, ou tel qu'obtenu par le procédé selon la revendication 11 ou 12.

10 21. Composition selon l'une des revendications 13 à 20, caractérisée en ce qu'elle comprend aussi au moins un agent antioxydant, en particulier le DL  $\alpha$ -tocophérol, ou l'un de ses sels ou esters tel que le tocophérolphosphate, et/ou un ascorbate, en particulier le palmitate d'ascorbyle, de préférence à une concentration comprise entre 0,001 % et 5 % environ en poids, par rapport au poids total dudit extrait.

22. Utilisation d'un extrait lipidique de l'algue *Skeletonema*, notamment *Skeletonema costatum*, en particulier d'un extrait lipidique total de ladite algue, comme agent cosmétique, en présence d'un véhicule cosmétiquement acceptable.

20 23. Utilisation selon la revendication 22, caractérisée en ce que ledit extrait est un agent inhibiteur de la 3',5'-AMPc phosphodiesterase.

24. Utilisation selon l'une des revendications 22 ou 23, caractérisée en ce que l'extrait est destiné au soin de la peau, en particulier pour obtenir une action amincissante, pour lutter contre les phénomènes d'inflammations cutanées, pour retarder ou atténuer les effets du vieillissement de la peau, pour réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées, notamment la cellulite.

25. Utilisation d'un extrait lipidique de l'algue *Skeletonema*, en particulier d'un extrait lipidique total de ladite algue, comme principe actif pour la fabrication d'une composition pharmaceutique, notamment dermatologique, destinée à obtenir une action amincissante, à lutter contre les phénomènes d'inflammation de la peau et à réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées, notamment la cellulite.

26. Utilisation selon l'une des revendications 22 à 25, caractérisée en ce qu'elle comprend de 0,001 % à 10 % environ, et en particulier de 0,02 % à 1 % environ, en poids sec dudit extrait lipidique par rapport au poids total de la composition finale.

27. Utilisation selon l'une des revendications 22 à 26, caractérisée en ce que l'extrait précité de l'algue *Skeletonema*, en particulier *Skeletonema costatum*, est tel que défini à l'une quelconque des revendications 1 à 10, ou tel qu'obtenu par le procédé d'extraction selon la revendication 11 ou 12.

5 28. Procédé de traitement cosmétique, caractérisé en ce qu'il comprend l'application topique, en particulier sur la peau, d'une personne en ayant besoin, d'une quantité cosmétiquement efficace d'un extrait lipidique de l'algue *Skeletonema*, en particulier d'un extrait lipidique total de ladite algue, en particulier tel que défini à l'une quelconque des revendications 1 à 10, ou tel  
10 qu'obtenu par le procédé d'extraction selon la revendication 11 ou 12, éventuellement dans un excipient cosmétiquement acceptable.

29. Procédé selon la revendication 28, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un traitement cosmétique amincissant comprenant l'application sur les zones de la peau concernée d'une personne en ayant besoin, d'une quantité efficace de l'extrait  
15 lipidique précité de l'algue *Skeletonema* pour obtenir un effet amincissant.

30. Procédé selon la revendication 28 ou 29, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un traitement cosmétique anti-cellulitique comprenant l'application sur les zones de la peau concernée d'une personne en ayant besoin, d'une quantité efficace de l'extrait lipidique précité de l'algue *Skeletonema* pour obtenir un effet de réduction  
20 de la cellulite ou pour en retarder l'apparition ou la progression.

31. Procédé selon la revendication 28, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un traitement cosmétique anti-vieillessement de la peau comprenant l'application sur les zones de la peau concernée d'une personne en ayant besoin, d'une quantité efficace de l'extrait lipidique précité de l'algue *Skeletonema* pour obtenir un effet  
25 anti-vieillessement sur lesdites zones de la peau, notamment pour améliorer la fermeté cutanée, améliorer l'élasticité de la peau, retarder l'apparition des rides ou diminuer leur profondeur.

32. Procédé selon la revendication 28, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un traitement cosmétique pour les peaux sensibles, comprenant l'application sur les  
30 zones de la peau concernée d'une personne en ayant besoin, d'une quantité efficace de l'extrait lipidique précité de l'algue *Skeletonema* pour atténuer ou supprimer les phénomènes d'irritations, d'inflammations ou d'allergies qui se traduisent au niveau cutané par des rougeurs, des sensations de brûlures ou de picotements.

33. Procédé de traitement cosmétique destiné au maintien ou à l'obtention  
35 d'un taux élevé d'AMPc intracellulaire au niveau des cellules cutanées, caractérisé en ce qu'il comprend l'application topique sur la peau d'une quantité

cosmétiquement efficace d'un extrait lipidique de l'algue *Skeletonema*, notamment de l'algue *Skeletonema costatum*, en particulier d'un extrait lipidique total de ladite algue, en particulier tel que défini à l'une quelconque des revendications 1 à 10, ou tel qu'obtenu par le procédé selon la revendication 11 ou 12, pour maintenir  
5 ou obtenir ledit taux élevé d'AMPc intracellulaire.

34. Procédé selon l'une des revendications 28 à 33, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un extrait lipidique de l'algue *Skeletonema*, notamment de l'algue *Skeletonema costatum*, en particulier d'un extrait lipidique total de ladite algue, obtenu à partir de l'algue congelée extraite dans l'isopropanol, de préférence au  
10 reflux.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

National Application No

PCT/FR 99/02144

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 7 A61K7/48 A61K35/80

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	STN, Serveur de Bases de Données, Karlsruhe, DE, Fichier Chemical Abstracts, Vol 112, AN=6435 XP002125164 * abstract	1
X	FR 2 657 012 A (S.E.C.M.A.) 19 July 1991 (1991-07-19) page 7, line 26 - line 32; claims 1-5; examples 6,12; table 1 * exemple: mousse à raser * page 8, line 1 - line 12	1-34
X	WO 94 24984 A (WINGET) 10 November 1994 (1994-11-10)  the whole document	1-14, 17-20, 22-28, 32-34

-/--

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 December 1999

Date of mailing of the international search report

25/01/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Fischer, J.P.



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No

PCT/FR 99/02144

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FR 2 683 720 A (JOUVANCE) 21 May 1993 (1993-05-21) claims 1,3,5,7-10 ----	1-34
X	US 5 767 095 A (WINGET) 16 June 1998 (1998-06-16)  the whole document ----	1-14, 17-20, 22-28, 32-34
X	WO 94 28913 A (MARTEK BIOSCIENCES CORPORATION) 22 December 1994 (1994-12-22)  the whole document ----	1-12, 18-20, 25-27
A	STN; Serveur de Bases de Données, Karlsruhe, DE, Fichier Chemical Abstracts, vol 121, AN=77961 *abstract XP002125163 -----	1-34

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 99/02144

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR 2657012	A	19-07-1991	NONE	
WO 9424984	A	10-11-1994	AU 6821294 A US 5620962 A US 5767095 A	21-11-1994 15-04-1997 16-06-1998
FR 2683720	A	21-05-1993	NONE	
US 5767095	A	16-06-1998	US 5620962 A AU 6821294 A WO 9424984 A	15-04-1997 21-11-1994 10-11-1997
WO 9428913	A	22-12-1994	AU 693450 B AU 6963594 A EP 0707487 A JP 8511533 T	02-07-1998 03-01-1995 24-04-1996 03-12-1996

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Donnée internationale No

PCT/FR 99/02144

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 7 A61K7/48 A61K35/80

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	STN, Serveur de Bases de Données, Karlsruhe, DE, Fichier Chemical Abstracts, Vol 112, AN=6435 XP002125164 * résumé *	1
X	FR 2 657 012 A (S.E.C.M.A.) 19 juillet 1991 (1991-07-19) page 7, ligne 26 - ligne 32; revendications 1-5; exemples 6,12; tableau 1 * exemple: mousse à raser * page 8, ligne 1 - ligne 12 --- -/--	1-34

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

\* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

13 décembre 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

25/01/2000

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale  
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Fischer, J.P.

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Document International No

PCT/FR 99/02144

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 94 24984 A (WINGET) 10 novembre 1994 (1994-11-10)  le document en entier ----	1-14, 17-20, 22-28, 32-34
A	FR 2 683 720 A (JOUVANCE) 21 mai 1993 (1993-05-21) revendications 1,3,5,7-10 ----	1-34
X	US 5 767 095 A (WINGET) 16 juin 1998 (1998-06-16)  le document en entier ----	1-14, 17-20, 22-28, 32-34
X	WO 94 28913 A (MARTEK BIOSCIENCES CORPORATION) 22 décembre 1994 (1994-12-22)  le document en entier ----	1-12, 18-20, 25-27
A	STN, Serveur de Bases de Données, Karlsruhe, DE, Fichier Chemical Abstracts, vol. 121, AN=77961 * résumé * XP002125163 -----	1-34

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Deposition internationale No

PCT/FR 99/02144

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR 2657012 A	19-07-1991	AUCUN	
WO 9424984 A	10-11-1994	AU 6821294 A US 5620962 A US 5767095 A	21-11-1994 15-04-1997 16-06-1998
FR 2683720 A	21-05-1993	AUCUN	
US 5767095 A	16-06-1998	US 5620962 A AU 6821294 A WO 9424984 A	15-04-1997 21-11-1994 10-11-1997
WO 9428913 A	22-12-1994	AU 693450 B AU 6963594 A EP 0707487 A JP 8511533 T	02-07-1998 03-01-1995 24-04-1996 03-12-1996

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**